

江苏地区肉鸡屠宰链弯曲菌分离菌株毒力基因分布及分子分型研究

张小燕, 周倩, 唐梦君, 蒲俊华, 张静, 唐修君, 陆俊贤, 高玉时*

(江苏省家禽科学研究所, 扬州 225125)

摘要: **目的** 了解江苏地区肉鸡屠宰生产链中弯曲菌分离菌株毒力基因分布及不同环节分离菌株遗传相关性。**方法** 利用特异性引物对肉鸡屠宰过程不同环节分离所得的 96 株弯曲菌分离菌株的 10 种致病相关毒力基因进行聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)检测, 应用多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST)方法对分离菌株进行分子分型研究, 通过与弯曲菌 MLST 数据库比对获得各株菌等位基因值、序列型(sequence types, STs)及克隆复合体。**结果** 96 株分离菌株中, *flaA*、*cadF* 和 *cdtB* 毒力基因携带率均为 100%, 其次为 *cdtC*、*iam* 和 *cdtA* 毒力基因, 携带率较高, 分别为 96.9%、86.5%和 84.4%, 另外 3 个毒力基因 *flhA*、*virB11*、*ciaB* 携带率均较低, 分别为 25.0%、15.6%、11.5%; 格林-巴利综合症相关毒力基因 *wlaN* 在所有菌株中均无检出。MLST 分型结果显示, 96 株弯曲菌可分为 10 个 STs, 其中 2 个为新 STs, 形成 1 种优势克隆复合体 CC828 (56 株)和 4 种未定义的克隆复合体, 表现为较低的遗传多样性。**结论** 肉鸡屠宰生产链中弯曲菌毒力基因分布广泛, 不同环节弯曲菌分离菌株遗传多样性较低, 表明弯曲菌在肉鸡屠宰生产链中存在交叉污染。

关键词: 肉鸡屠宰链; 弯曲菌; 毒力基因; 多位点序列分型

Study on the virulence gene distribution and molecular typing of *Campylobacter* isolates from broiler slaughter chain in Jiangsu Province

ZHANG Xiao-Yan, ZHOU Qian, TANG Meng-Jun, PU Jun-Hua, ZHANG Jing,
TANG Xiu-Jun, LU Jun-Xian, GAO Yu-Shi*

(Jiangsu Institute of Poultry Science, Yangzhou 225125, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the virulence gene distribution and genetic correlation of *Campylobacter* isolates from different links in broiler slaughter chain in Jiangsu Province. **Methods** Ten kinds of pathogenic virulence genes of 96 strains of *Campylobacter* isolated from different links of broiler slaughtering process were detected by polymerase chain reaction (PCR) with specific primers, the molecular typing of these isolates was investigated by multilocus sequence typing (MLST), the allelic values, sequence types (STs) and clonal complexes of each strain were obtained by comparing with the MLST database of *Campylobacter*. **Results** Among the 96 strains

基金项目: 扬州市社会发展项目(YZ2020061)、江苏省农业科技自主创新资金项目(CX(21)2011)

Fund: Supported by the Yangzhou Social Development Project (YZ2020061), and the Jiangsu Agricultural Science and Technology Independent Innovation Fund (CX(21)2011)

*通信作者: 高玉时, 研究员, 主要研究方向为禽产品质量安全控制与品质评价。E-mail: gaoy100@sina.com

*Corresponding author: GAO Yu-Shi, Professor, Jiangsu Institute of Poultry Science, No.58, Cangjie Road, Hanjiang District, Yangzhou 225125, China. E-mail: gaoy100@sina.com

of isolates, the carrying rates of virulence genes *flaA*、*cadF* and *cdtB* were 100%, followed by the virulence genes *cdtC*、*iam* and *cdtA*, the carrying rates were higher, which of 96.9%, 86.5% and 84.4%, respectively, the carrying rates of *flhA*、*virB11*、*ciaB* were low, which of 25.0%、15.6%、11.5%, respectively. The gene *wlaN* resulting in an increased risk for Guillain-Barré syndrome in patients was not detected in all strains. MLST genotyping showed that a total of 10 STs, including 2 novel STs, were observed from the 96 strains of isolates, 1 kinds of dominant clonal complex CC828 (56 strains) and 4 kinds of undefined clonal complexes were formed, showing low genetic diversity.

Conclusion The virulence genes of *Campylobacter* isolates are widely distributed in the broiler slaughter chain, and the genetic diversities of *Campylobacter* isolates at different stages are low, indicating that there is cross-contamination of *Campylobacter* in broiler slaughter chain.

KEY WORDS: broiler slaughter chain; *Campylobacter*; virulence genes; multilocus sequence typing

0 引言

弯曲菌属(*Campylobacter*)的空肠弯曲菌(*Campylobacter jejuni*)和结肠弯曲菌(*Campylobacter coli*)是引起人类食源性胃肠炎的最主要病原菌^[1]。研究表明,低至 360 CFU 的空肠弯曲菌感染量即可引起人的弯曲菌病^[2]。人感染弯曲菌的主要症状为腹泻、腹部痉挛、呕吐及发烧等,大多数情况下弯曲菌引起的肠炎是自限性的,少数感染可引发格林-巴利综合征等并发症^[3]。家禽是弯曲菌的主要宿主,在弯曲菌的传播中有重要作用^[4]。肉鸡 14 日龄开始会出现弯曲菌感染,随着日龄的增加,其感染率及感染量逐渐增加,直至生长期结束时仍维持较高感染水平^[5]。屠宰环节是造成弯曲菌在鸡肉中交叉污染的最主要工序之一。在屠宰过程中,肠道内容物不可避免地接触肉鸡胴体及屠宰环境,进一步造成鸡肉中弯曲菌的污染。

弯曲菌感染的致病机制比较复杂,至今尚不明确^[6]。近来已报道一些弯曲菌的毒力因子,其中包括表达黏附与定植相关蛋白的 *flaA*、*flhA*、*cadF* 和 *racR* 基因,表达侵袭相关蛋白的 *virB11* 和 *iam* 基因,表达细胞毒素的相关基因 *cdtA*、*cdtB* 和 *cdtC*,以及负责模拟人神经节苷脂寡糖的生物合成从而导致格林-巴利综合征风险增加的 *wlaN* 基因^[7-9]。而弯曲菌中毒力基因的存在和表达是其致病的原因之一。

迄今为止,最常用于弯曲菌分型的方法包括脉冲场凝胶电泳(pulsed field gel electrophoresis, PFGE)和多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST),但 PFGE 法由于费时费力且需标准化的电泳模式,对电泳图谱的解读差异也使其使用受到一定限制^[10]。MLST 法通过对细菌多个管家基因进行测序获得其等位基因序列,进而给每个基因位点指定相应的等位基因值,从而构成一个等位基因谱,给出相应的序列型(sequence types, STs),其结果基于测序后对应专门的数据库中不同实验室及不同国家的弯曲菌分离株的分析结果进行比较后得出,可用于全球化分离菌株的信息比对与分析。

本研究对江苏某肉鸡屠宰生产链中分离的 96 株弯曲菌进行聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)检测,并进行 MLST 分型,同时检测弯曲菌的 10 个毒力基因,初步分析肉鸡屠宰过程中弯曲菌的交叉污染及其毒力基因分布现状,以期为了解肉鸡屠宰链中弯曲菌的潜在风险,预防食源性疾病的发生提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源

96 株弯曲菌(空肠弯曲菌 19 株、结肠弯曲菌 77 株)为 2017 年 4 月至 11 月从江苏某大型肉鸡屠宰场生产链采集样品分离菌株,其中来源于泄殖腔棉拭样品 8 株、脱毛后解剖前胴体样品 17 株、开膛去内脏后胴体样品 14 株、清洗预冷后胴体样品 15 株、成品鸡胴体样品 18 株、环境样品中来源于地面擦拭样品 5 株、清洗预冷池水样品 3 株、操作台面擦拭样品 10 株、操作人员手套擦拭样品 6 株。空肠弯曲菌标准菌株(NCTC11168)、结肠弯曲菌标准菌株(ATCC33559)由本实验室保存。

1.1.2 主要试剂和培养基

Premix Ex Taq、DNA Marker[宝生物工程(大连)有限公司];细菌 DNA 提取试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]。

脱纤维绵羊全血、Cary-Blair 运送培养基、Bolton 肉汤(青岛海博生物技术有限公司);弯曲菌改良 CCDA (*Campylobacter* blood-free selective agar)培养基、MH 琼脂培养基(Mueller-Hinton Agar, MHA)、牛脑心浸出液培养基(brian heart infusion, BHI)(美国 OXOID 公司);混合气体(5% O₂、10% CO₂ 和 85% N₂)(南京特种气体有限公司);引物由上海生工生物技术有限公司合成。

1.1.3 主要仪器

5331 型 PCR 扩增仪(德国 Eppendorf 公司);DYY-12 型电泳仪(北京市六一仪器厂);GelDoc 2000 凝胶成像系统(美国 BIO-RAD 公司);E191TC 二氧化碳恒温培养箱(美国

SIM 公司)。

1.2 方法

1.2.1 DNA 模板制备

将冻存于-70 °C的弯曲菌分离菌株用接种环挑取部分涂抹于 CCDA 平板, 42 °C微需氧培养 36 h 后, 转接 MHA 平板(含 5%脱纤维绵阳血), 42 °C微需氧培养 36 h 后挑取纯培养物接种于 Bolton 肉汤中, 42 °C微需氧培养 48 h 后收集菌体。严格按照细菌基因组 DNA 提取试剂盒说明书提取弯曲菌基因组 DNA, 提取后的基因组 DNA 置于-20 °C保存备用。

1.2.2 毒力基因检测

参照文献方法合成 10 对弯曲菌毒力基因 PCR 特异性引物^[11-16], 引物序列、目的基因片段大小、退火温度等见表 1。PCR 反应体系为: 20 μL 反应体系, *Premix Ex Taq* 12.5 μL, 上下游引物各 1 μL (10 μmol/L), 基因组 DNA 1 μL, 无菌去离子水 9.5 μL。PCR 反应条件为: 95 °C预变性 1 min; 95 °C变性 30 s, 退火 1 min, 72 °C延伸 1 min, 共 30 个循环; 72 °C延伸 10 min, 4 °C保存。PCR 结束后取 5 μL PCR 产物进行 1.2%琼脂糖凝胶电泳^[11]。

表 1 弯曲菌毒力基因检测用引物序列
Table 1 Primer sequences for the detection of *Campylobacter* virulence genes

基因名称	引物序列(5'-3')	片段大小/bp	退火温度/°C	参考文献
<i>cadF</i>	F: TTGAAGGTAATTTAGATAT R: CTAATACCTAAAGTTGAAAC	400	45	[11]
<i>VirB11</i>	F: GAACAGGAAGTGGAAAACTAGC R: TTCCGCATTGGGCTATATG	708	55	[12]
<i>iam</i>	F: GCGCAAAATATTATCACCC R: TTCACGACTACTATGCGG	518	55	[13]
<i>wlaN</i>	F: TGCTGGGTATACAAAGGTTGTG R: AATTTTGGATATGGGTGGGG	330	56	[14]
<i>flhA</i>	F: GGAAGCGGCACTTGGTTTGC R: GCTGTGAGTGAGATTATAGCAGC	735	54	[14]
<i>flaA</i>	F: AATAAAAATGCTGATAAACAGGTG R: TACCGAACCAATGTCTGCTCTGATT	855	53	[15]
<i>ciaB</i>	F: TTTTATCAGTCCTTA R: TTTCGGTATCATTAGC	986	42	[15]
<i>cdtA</i>	F: GGAAATTGGATTGGGGCTATACT R: ATCACAAGGATAATGGACAAT	165	42	[16]
<i>cdtB</i>	F: GTTAAAATCCCCTGCTATCAACCA R: GTTGGCAGTTGGAATTTGCAAGGC	495	42	[16]
<i>cdtC</i>	F: TGGATGATAGCAGGGGATTTAAC R: TTGCACATAACCAAAAGGAAG	555	42	[16]

1.2.3 MLST 分型

参照文献选用弯曲菌 MLST 分型的 7 个管家基因 *aspA*、*glnA*、*gltA*、*glyA*、*pgm*、*tkl* 和 *uncA*, 根据数据库(<http://pubmlst.org/campylobacter>)推荐使用的空肠弯曲菌和结肠弯曲菌扩增和测序引物进行 MLST 实验^[17]。50 μL 反应体系: 25 μL *Premix Ex Taq*、上下游引物(10 μmol/L)各 2 μL、模板 DNA 2 μL、无菌去离子水 19 μL。PCR 反应条件: 94 °C预变性 3 min; 94 °C变性 30 s, 53 °C退火 30 s, 72 °C延伸 2 min, 30 个循环。PCR 产物经 1%琼脂糖凝胶电泳验证, 片段大小与预期一致且条带单一明亮的样品送至上海生工生物工程股份有限公司测序。用 BioEdit 对测序结果进行剪切整

理并与标准序列比对, 然后将序列提交弯曲菌 MLST 数据库, 获得各菌株所对应的各等位基因图谱, 确定其序列型。用 MEGA-X 对其序列进行比对, 利用 Neighbor-joining 构建其系统发育树, 分析各菌株间相互关系。

2 结果与分析

2.1 毒力基因检测结果

在 96 株分离菌株中, *flaA*、*cadF* 和 *cdtB* 基因是最为常见的毒力基因, 其检出率均为 100%, 其次检出率较高的是 *cdtC*、*iam* 和 *cdtA* 基因, 分别为 96.9%、86.5%和 84.4%。

另外 3 个毒力基因 *flhA*、*virB11*、*ciaB* 检出率均较低, 分别为 25.0%、15.6%、11.5%。格林-巴利综合症相关毒力基因 *wlaN* 在所有菌株中均无检出, 这与 KHOSHBAKHT 等^[18-19] 所研究的伊朗肉鸡源弯曲菌中其 82.2% 的携带率结果不一致, 该基因携带率的差异可能是菌株的地理区域及菌株的多态性不同造成的。*iam*、*flhA*、*ciaB* 和 *cdtA* 在空肠弯曲菌和结肠弯曲菌中的检出率差异较大, 而 *virB11* 基因在两种菌的检出率均较低, 但结肠弯曲菌检出率稍高于空肠弯曲菌, 为 18.2%(图 1), 所有菌株都含有 4 种以上检测的毒力基因。

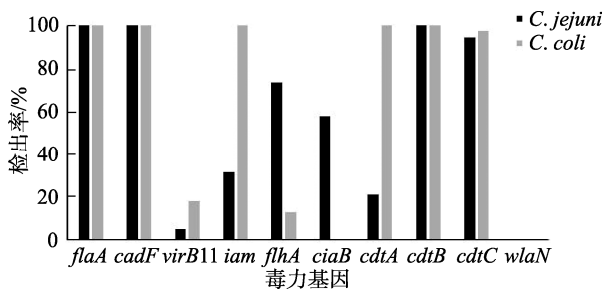


图 1 弯曲菌毒力基因检出率

Fig.1 Presences of pathogenic genes in *Campylobacter* isolates

2.2 毒力基因谱分析

毒力基因谱分析结果见表 2, 96 株弯曲菌分离菌株共检测出 9 个谱型, 其毒力基因携带率差异性较大, 同时携带 6 种及以上毒力基因的弯曲菌占 96.9% (93 株)。毒力基因谱为 *cadF-flaA-iam-cdtA-cdtB-cdtC* 的弯曲菌占 60.4% (58 株), 为本次检测的优势毒力基因谱。有 2 株(2.1%)弯曲菌为含有 8 种毒力基因的谱型。从优势毒力基因谱可以看出, 大部分菌株含有细胞毒素相关基因 *cdt* 及黏附侵袭相关基因 *cadF*、*flaA* 和 *iam*, 表明肉鸡屠宰环节弯曲菌分离菌株具有较强的潜在致病性, 与 BAI 等^[20] 研究结果一致。

表 2 弯曲菌分离菌株毒力基因谱及其比例

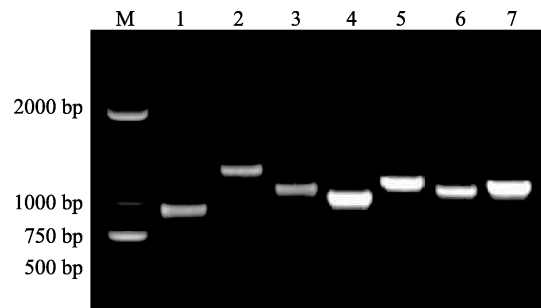
Table 2 Virulence gene profiles of *Campylobacter* isolates and their proportion

毒力基因谱	菌株数(占比/%)
<i>cadF-flaA-cdtB-cdtC</i>	1 (1.0)
<i>cadF-flaA-flhA-cdtB-cdtC</i>	2 (2.1)
<i>cadF-flaA-flhA-ciaB-cdtB-cdtC</i>	10 (10.4)
<i>cadF-flaA-flhA-iam-cdtB-cdtC</i>	1 (1.0)
<i>cadF-flaA-iam-cdtA-cdtB-cdtC</i>	58 (60.4)
<i>cadF-flaA-flhA-iam-ciaB-cdtB-cdtC</i>	1 (1.0)
<i>cadF-flaA-flhA-iam-cdtA-cdtB-cdtC</i>	8 (8.3)
<i>cadF-flaA-iam-virB11-cdtA-cdtB-cdtC</i>	13 (13.5)
<i>cadF-flaA-iam-virB11-flhA-cdtA-cdtB-cdtC</i>	2 (2.1)

2.3 MLST 分型结果

MLST 分型结果显示, 96 株分离菌株可分为 10 个不同的 STs, 其中 2 个为新序列型。除 2 个新 STs 外, 4 个 STs 属于 CC828 克隆复合体, 另外 4 个属于未定义克隆复合体。图 2 为 7 个管家基因的 PCR 扩增结果。由表 3 可知, ST-860 和 ST-6186 为整个屠宰环节的优势 STs。环境样品分离菌株与鸡肉样品分离菌株存在相同 STs, 96 株菌株表现出较低的遗传多样性, 表明弯曲菌在肉鸡生产链不同批次及不同环节存在交叉污染。RAMIRES 等^[21] 通过分子分型发现来源于单一养殖场污染的弯曲菌可出现在肉鸡屠宰阶段的各个环节包括肉鸡内脏、热水及清洗预冷水中, 与本研究不同环节存在相同 STs 的结果相似。

为进一步了解不同环节分离菌株之间的遗传关系, 将各结肠弯曲菌菌株序列按照 *aspA-glnA-gltA-glyA-pgm-tkt-uncA* 的顺序拼接(因空肠弯曲菌只有 3 种 STs, 不能比对, 故未构建系统发育树), 使用 MEGA-X 对其序列进行比对并利用 Neighbor-joining 构建其系统发育树, 结果如图 3 所示。从图 3 进化树分析可知, 总体可分为 2 簇, 分别包含 5 种和 4 种 STs, 属于同一克隆复合体的菌株具有较近的遗传相关性。



注: M 为 DL 2000 Marker; 1~7 分别为 *aspA*、*glnA*、*gltA*、*glyA*、*pgm*、*tkt*、*uncA*。

图 2 7 个管家基因 PCR 扩增结果

Fig.2 PCR amplification results of 7 housekeeping genes

表 3 弯曲菌分离菌株 MLST 结果

Table 3 MLST results of all *Campylobacter* isolates

菌株来源	STs	克隆复合体	菌株数量
泄殖腔棉拭	8089	UA	3
	6186	UA	1
	5511	UA	1
	860	828	3
解剖前胴体	8089	UA	4
	6186	UA	5
	860	828	7
	830	828	1

表 3(续)

菌株来源	ST-型	克隆复合体	菌株数量
去内脏后胴体	8089	UA	2
	6186	UA	3
	860	828	8
	New1	-	1
清洗预冷后胴体	8089	UA	1
	6186	UA	5
	825	828	1
	5511	UA	1
	9034	UA	1
	New2	-	1
	860	828	5
成品鸡胴体	6186	UA	4
	825	828	3
	860	828	10
	830	828	1
地面擦拭样品	8089	UA	3
	6186	UA	2
清洗池水样	8089	UA	2
	860	828	1
操作台面	872	828	2
	860	828	6
	825	828	2
操作人员手	872	828	4
	860	828	2

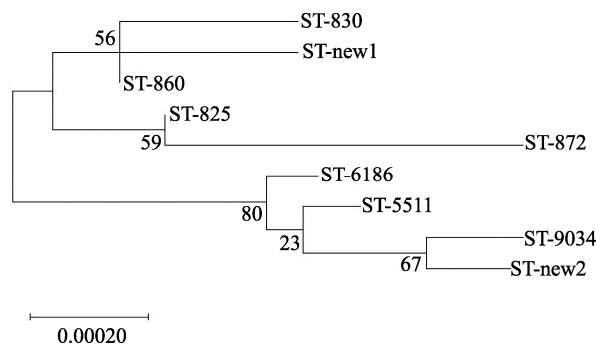


图 3 结肠弯曲菌 MLST 进化树

Fig.3 Phylogenetic tree of *C.coli* constructed by MLST

3 结论与讨论

弯曲菌中已鉴定出包括鞭毛系统、趋化系统、黏附及定植能力、细胞致死性肿胀毒素等相关毒力因子,但其致病机制尚未完全清楚^[22-23]。因此除对肉鸡屠宰生产链中弯曲菌进行流行病学特征研究外,确定弯曲菌的致病性也显得尤为重要。本研究结果显示,肉鸡屠宰生产链中不同环

节弯曲菌分离菌株均携带一定数量的毒力基因,且 *flaA*、*cadF*、*iam* 和 *cdt* 等毒力基因具有高阳性率,表明这些毒力基因在肉鸡生产链弯曲菌中的广泛存在,这与 GARCÍA-SÁNCHEZ 等^[24]和 FRAZÃO 等^[25]的研究结果一致,这部分毒力基因的高携带率也表明这些菌株具有较高的潜在致病风险^[26]。本研究中分离菌株虽然未检测到 *wlaN* 基因,但有研究表明肉鸡屠宰过程最终环节弯曲菌分离菌株中该基因呈上升趋势,这就意味着消费者感染此类弯曲菌并发展成为格林-巴利综合症的风险将增加^[27]。*wlaN* 基因的携带率可能因地理区域及菌株自身的多态性不同而异,弯曲菌的遗传多态性决定了自身抗体的反应性和格林-巴利综合症的临床表现^[19]。此外,研究还表明 *wlaN* 基因在腹泻患者粪便分离菌株中高表达^[7]。因此,肉鸡屠宰生产链中采取严格措施防止弯曲菌的交叉污染从而减少弯曲菌通过食物链感染人类,并加强对弯曲菌污染程度及 *wlaN* 等毒力基因的监测很有必要。

有研究表明空肠弯曲菌中某些毒力基因的流行程度要高于结肠弯曲菌,尤其是产毒素基因(*cdt*)、上皮细胞入侵相关基因(*ciaB*)和 *racR* 基因等^[27]。本研究结果显示, *iam*、*flhA*、*ciaB* 和 *cdtA* 在空肠弯曲菌和结肠弯曲菌中的检出率差异较大,空肠弯曲菌 *flhA* 和 *ciaB* 的检出率高于结肠弯曲菌。另一种侵袭相关基因(*iam*)在结肠弯曲菌中的检出率高于空肠弯曲菌,这一结果与其他研究结果相一致^[7,27]。细菌毒力受毒力基因表达的影响,特定毒力基因的存在虽不是弯曲菌对人类致病的直接证据,但它们具有诱发弯曲菌病的潜在风险。

肉鸡屠宰加工过程工序较多、操作繁杂,极易发生交叉污染^[28]。为探究肉鸡屠宰过程中弯曲菌的遗传相关性,对 96 株分离菌株进行 MLST 分型分析,结果显示同一 ST 分布于不同环节来源弯曲菌分离菌株,表明该肉鸡屠宰生产链上下游环节存在弯曲菌传播的趋势,且环境样品来源与鸡肉样品来源分离菌株 STs 一致,表明肉鸡屠宰生产链中弯曲菌可通过地面环境、操作人员、机械设备等形成交叉污染,即使是清洗水池中弯曲菌也能存活并传播。ROSSLER 等^[27]对整个鸡肉生产链中弯曲菌基因型研究结果也表明,弯曲菌在屠宰生产链中鸡胴体、刀具表面及其他设备表面均存在交叉污染。另外一些研究结果表明家禽屠宰场不同鸡群间存在弯曲菌交叉污染,一些菌株可通过形成生物膜抵御灭活措施从而存活更久^[24,29]。本研究中 ST-872 的菌株仅来源于操作台面及操作人员的手,而在鸡肉胴体及泄殖腔中均未出现,推测该序列型菌株可能来源于其他鸡群,其通过形成生物膜的形式存在于加工设备操作人员手表面,形成对不同批次屠宰鸡肉交叉污染的隐患^[29]。

综上所述,该肉鸡屠宰链弯曲菌分离菌株对 10 种主要毒力基因中的 6 种携带率较高,屠宰链各环节及环境存在交叉污染,应进一步严格肉鸡屠宰链各环节杀菌消毒措施,加强弯曲菌监测,从而降低消费者因食用鸡肉而感染弯曲菌的风险。

参考文献

- [1] KAAKOUSH NO, CASTAÑO-RODRÍGUEZ N, MITCHELL HM, *et al.* Global epidemiology of *Campylobacter* infection [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2015, 28(3): 687–720.
- [2] HARA-KUDO Y, TAKATORI K. Contamination level and ingestion dose of foodborne pathogens associated with infections [J]. *Epidemiol Infect*, 2011, 139(10): 1505–1510.
- [3] POROPATICH KO, FISCHER WCL, BLACK RE. Quantifying the association between *Campylobacter* infection and Guillain-Barré syndrome: A systematic review [J]. *J Health Popul Nutr*, 2010, 28(6): 545–552.
- [4] SKARP CPA, HÄNNINEN ML, RAUTELIN HIK. *Campylobacteriosis*: The role of poultry meat [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2016, 22(2): 103–109.
- [5] GREGORY E, BARNHART H, DREESEN DW, *et al.* Epidemiological study of *Campylobacter* spp. in broilers: Source, time of colonization, and prevalence [J]. *Avian Dis*, 1997, 41(4): 890–898.
- [6] WIECZOREK K, WOLKOWICZ T, OSEK J. *flaA*-SVR based genetic diversity of multi resistant *Campylobacter jejuni* isolated from chickens and humans [J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 1176.
- [7] GONZÁLEZ-HEIN G, HUARACÁN B, GARCÍA P, *et al.* Prevalence of virulence genes in strains of *Campylobacter jejuni* isolated from human, bovine and broiler [J]. *Braz J Microbiol*, 2014, 44(4): 1223–1229.
- [8] REDONDO N, CARROLL A, MCNAMARA E. Molecular characterization of *Campylobacter* causing human clinical infection using whole-genome sequencing: Virulence, antimicrobial resistance and phylogeny in Ireland [J]. *PLoS One*, 2019, 14(7): e0219088.
- [9] GUIRADO P, PAYTUBI S, MIRÓ E, *et al.* Differential distribution of the *wlaN* and *cgtB* genes, associated with Guillain-Barré syndrome, in *Campylobacter jejuni* isolates from humans, broiler chickens, and wild birds [J]. *Microorganisms*, 2020, 8(3): 325.
- [10] BARTON C, NG LK, TYLER SD, *et al.* Temperate bacteriophages affect pulsed-field gel electrophoresis patterns of *Campylobacter jejuni* [J]. *J Clin Microbiol*, 2007, 45(2): 386–391.
- [11] KONKEL ME, GRAY SA, KIM BJ, *et al.* Identification of the enteropathogens *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* based on the *cadF* virulence gene and its product [J]. *J Clin Microbiol*, 1999, 37(3): 510–517.
- [12] BACON DJ, ALM RA, BURR DH, *et al.* Involvement of a plasmid in virulence of *Campylobacter jejuni* 81-176 [J]. *Infect Immun*, 2000, 68(8): 4384–4390.
- [13] KORSACK D, DZIERZANOWSKA-FANGRAT K, POPOWSKIP J, *et al.* Incidence of the virulence markers *iam* in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains isolated from poultry carcasses [J]. *Rocz Panstw Zakl Hig*, 2004, 55(4): 307–312.
- [14] MÜLLER J, SCHULZE F, MÜLLER W, *et al.* PCR detection of virulence-associated genes in *Campylobacter jejuni* strains with differential ability to invade Caco-2 cells and to colonize the chick gut [J]. *Vet Microbiol*, 2006, 113(1-2): 123–129.
- [15] DATTA S, NIWA H, ITOH K. Prevalence of 11 pathogenic genes of *Campylobacter jejuni* by PCR in strains isolated from humans, poultry meat and broiler and bovine faeces [J]. *J Med Microbiol*, 2003, 52(Pt4): 345–348.
- [16] BANG DD, NIELSEN EM, SCHEUTZ F, *et al.* PCR detection of seven virulence and toxin genes of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates from Danish pigs and cattle and cytotoxic distending toxin production of the isolates [J]. *J Appl Microbiol*, 2003, 94(6): 1003–1014.
- [17] DINGLE KE, COLLES FM, WAREING DR, *et al.* Multilocus sequence typing system for *Campylobacter jejuni* [J]. *J Clin Microbiol*, 2001, 39(1): 14–23.
- [18] KHOSHBAKHT R, TABATABAEI M, HOSSEINZADEH S, *et al.* Distribution of nine virulence-associated genes in *Campylobacter jejuni* and *C. coli* isolated from broiler feces in Shiraz, Southern Iran [J]. *Foodborne Pathog Dis*, 2013. <https://doi.org/10.1089/fpd.2013.1489>
- [19] SIERRA-ARGUELLO YM, PERDONCINI G, RODRIGUES LB, *et al.* Identification of pathogenic genes in *Campylobacter jejuni* isolated from broiler carcasses and broiler slaughterhouses [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 4588.
- [20] BAI J, CHEN Z, LUO K, *et al.* Highly prevalent multidrug-resistant *Campylobacter* spp. isolated from a yellow-feathered broiler slaughterhouse in south China [J]. *Front Microbiol*, 2021, 12: 682741.
- [21] RAMIRES T, GREICI OM, KLEINUBING NR, *et al.* Genetic diversity, antimicrobial resistance, and virulence genes of thermophilic *Campylobacter* isolated from broiler production chain [J]. *Braz J Microbiol*, 2020, 51(4): 2021–2032.
- [22] BISWAS D, HANNON SJ, TOWNSEND HGG, *et al.* Genes coding for virulence determinants of *Campylobacter jejuni* in human clinical and cattle isolates from Alberta, Canada, and their potential role in colonization of poultry [J]. *Int Microbiol*, 2011, 14(1): 25–32.
- [23] BOLTON DJ. *Campylobacter* virulence and survival factors [J]. *Food Microbiol*, 2015, 48: 99–108.
- [24] GARCÍA-SÁNCHEZ L, MELERO B, JAIME I, *et al.* Biofilm formation, virulence and antimicrobial resistance of different *Campylobacter jejuni* isolates from a poultry slaughterhouse [J]. *Food Microbiol*, 2019, 83: 193–199.
- [25] FRAZÃO MR, CAZENTINI MMI, SILVA DS, *et al.* Pathogenic potential and genotypic diversity of *Campylobacter jejuni*: A neglected food-borne pathogen in Brazil [J]. *J Med Microbiol*, 2017, 66(3): 350–359.
- [26] GHARBI M, BÉJAOUI A, HAMDA CB, *et al.* Distribution of virulence and antibiotic resistance genes in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from broiler chickens in Tunisia [J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2021.07.001>
- [27] ROSSLER E, OLIVERO C, SOTO LP, *et al.* Prevalence, genotypic diversity and detection of virulence genes in thermotolerant *Campylobacter* at different stages of the poultry meat supply chain [J]. *Int J Food Microbiol*, 2020, 326: 108641.
- [28] 刘天红, 裴晟晨, 宋召军. 肉鸡屠宰加工过程中空肠弯曲菌污染的监测与分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(8): 3083–3089.
- LIU TH, QIU SC, SONG ZJ. Monitoring and analysis of *Campylobacter jejuni* contamination during slaughtering and processing of broilers [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(8): 3083–3089.
- [29] GARCÍA-SÁNCHEZ L, MELERO B, ROVIRA J. *Campylobacter* in the food chain [J]. *Adv Food Nutr Res*, 2018, 86: 215–252.

(责任编辑: 郑丽于梦娇)

作者简介



张小燕, 副研究员, 主要研究方向为禽产品质量安全。

E-mail: xiaoyanpanda@163.com



高玉时, 研究员, 主要研究方向为禽产品质量安全控制与品质评价。

E-mail: gaoyu100@sina.com